

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第3647810号
(P3647810)

(45) 発行日 平成17年5月18日(2005.5.18)

(24) 登録日 平成17年2月18日(2005.2.18)

(51) Int. Cl.⁷

F I

GO 1 N 33/92
GO 1 N 21/64
GO 1 N 21/76
GO 1 N 21/78
// GO 1 N 33/533

GO 1 N 33/92 Z
GO 1 N 21/64 B
GO 1 N 21/64 F
GO 1 N 21/76
GO 1 N 21/78 C

請求項の数 11 (全 10 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2001-554066 (P2001-554066)
(86) (22) 出願日 平成13年1月17日(2001.1.17)
(65) 公表番号 特表2003-520963 (P2003-520963A)
(43) 公表日 平成15年7月8日(2003.7.8)
(86) 国際出願番号 PCT/GB2001/000167
(87) 国際公開番号 W02001/053829
(87) 国際公開日 平成13年7月26日(2001.7.26)
審査請求日 平成15年1月7日(2003.1.7)
(31) 優先権主張番号 0001089.2
(32) 優先日 平成12年1月18日(2000.1.18)
(33) 優先権主張国 英国 (GB)

(73) 特許権者 399128437
カウンスル・フォー・ザ・セントラル・ラ
ボラトリー・オブ・ザ・リサーチ・カウ
ンシルズ
COUNCIL FOR THE CEN
TRAL LABORATORY OF
THE RESEARCH COUNCI
LS
イギリス、ダブリューエイ4・4エイディ
、チェシャー、ウォーリントン、デアーズ
ベリー、デアーズベリー・ラボラトリー
(74) 代理人 100062144
弁理士 青山 稔
(74) 代理人 100086405
弁理士 河宮 治

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 リポタンパク質のアッセイ方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

少なくとも2つの異なるクラスのリポタンパク質の混合物を含有する試料中の特定のクラスのリポタンパク質の濃度または相対的濃度を決定するためのアッセイ方法であって、

i) 各々のクラスのリポタンパク質に結合し、そのように結合する場合、適当な励起下にて蛍光する単一プローブ物質を該試料に添加し、

ii) 試料に対して時間分解蛍光測定を行ない；次いで、

iii) 該時間分解蛍光測定から得られた蛍光減衰データの分析から該決定を行う工程を含むことを特徴とする該方法。

【請求項 2】

該リポタンパク質のクラスが、HDL、LDLおよびVLDLであることを特徴とする請求項1記載の方法。

【請求項 3】

該試料が、血清または血漿から得られることを特徴とする請求項1または2記載の方法。

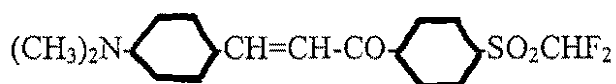
【請求項 4】

該異なるクラスのリポタンパク質の各々につき時間の関数として異なる特徴的蛍光強度の減衰を有するように該プローブ物質を選択することを特徴とする請求項1ないし3のいずれか1記載の方法。

【請求項 5】

該プローブ物質が、化学式 K - 37 :

【化 1】



により表されることを特徴とする請求項 1 ないし 4 のいずれか 1 記載の方法。

【請求項 6】

工程 (i i i) の該決定が、減衰速度を表す時間分解強度減衰パラメーターからなされることを特徴とする請求項 1 ないし 5 のいずれか 1 記載の方法。

【請求項 7】

工程 (i i i) の該分析が、減衰時間定数を決定するための時間分解蛍光測定データの多重指数関数分析を含み、該決定が該時間定数の関数としてなされることを特徴とする請求項 6 記載の方法。

【請求項 8】

該多重指数関数分析が、振幅を減少させる一連の指数関数として時間分解蛍光減衰を表わし、該時間定数が指数関数の最も重要な時間定数であることを特徴とする請求項 7 記載の方法。

【請求項 9】

工程 (i i i) の該決定が、該試料中に存在する全標的分子タイプの総濃度に対する第 1 の標的分子タイプの濃度を決定することを含むことを特徴とする請求項 1 ないし 8 のい

【請求項 10】

工程 (i i i) の該決定が、該時間分解減衰測定データおよび試料中に存在する全てのクラスのリポタンパク質を含む総リポタンパク質濃度の別々の測定値の組合せから第 1 の標的分子タイプの濃度を決定することを含むことを特徴とする請求項 1 ないし 9 のいずれ

【請求項 11】

総リポタンパク質濃度の該別々の測定値が生化学的に得られることを特徴とする請求項 10 記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

本発明は、多数の異なるリポタンパク質クラスを含む試料中の特定のクラスのリポタンパク質の濃度または相対的濃度を決定するためのアッセイ方法に関する。

【0002】

特に、専らではないが、本発明は、蛋白質混合物中の特定のリポタンパク質の同一性を決定するための、および血漿または血清のごとき蛋白質混合物中の異なるクラスのリポタンパク質を区別するためのアッセイに関する。

【0003】

脂質、コレステロールおよびトリグリセリドの担体であるリポタンパク質は、血漿または血清の主成分中にある（簡潔には、後記では、「血漿」なる用語を用いるが、「血漿」への引用は、血漿または血清への引用として解釈されるべきである）。血漿中に見出されたりポタンパク質は、3つの主要クラス：高密度リポ蛋白質（HDL）、低密度リポ蛋白質（LDL）および超低密度リポ蛋白質（VLDL）に分類される。血漿中リポタンパク質濃度とアテローム性動脈硬化症（すなわち、心血管疾患発生）の危険性との間に強い関連性があることはよく知られている。また、異なるクラスのリポタンパク質が各々、アテローム性動脈硬化症において異なる役割を果たすことも知られている。例えば、HDLは抗アテローム発生物質とみなされるが、LDLは高度のアテローム発生物質である（そのコレステロールはアテローム性動脈硬化症発生と緊密に関連して運搬する）ことが知られている。VLDLは、わずかにアテローム発生物質であり、女性においてより重要であると考えられている。

10

20

30

40

50

【 0 0 0 4 】

血漿は様々な蛋白質の複合混合物であり、分離し、次いで異なるクラスのリポタンパク質の濃度を直接的に測定する方法は知られているが、かかる方法は複雑でかつ高価である。従って、臨床検査室において広く用いられるリポタンパク質アッセイの通常の方法は間接的方法であり、ここに、重要なLDL濃度は、

Friedewaldの式：

$$(CH - LDL) = CH - (CH - HDL) - TG / 5$$

[式中、CHは総コレステロール濃度、(CH - LDL)はコレステロールLDL濃度であり、(CH - HDL)はHDL濃度であって、TGは(遊離グリセロールを含めた)トリグリセリド濃度である]

を用いて、総コレステロール濃度、トリグリセリド濃度およびHDL濃度の測定値から計算される。

【 0 0 0 5 】

HDL、CHおよびTG濃度は、LDL濃度の計算前に測定しなければならず、HDL、CHおよびTG濃度の測定におけるいずれの誤差もLDL濃度の計算において形成されると認められるであろう。加えて、TG濃度の通常測定は、トリグリセリドおよび遊離グリセロールの濃度間を区別せず、それは変動し、LDL濃度の計算にさらなる誤差を誘導し得る。かくして、LDL濃度の計算は、特に高トリグリセリドレベルにて非常に大きくなり得る誤差を含む。かかる誤差は、例えば、広範囲に用いられる(ダイエット、薬剤等のごとき)LDL低下処置の進行をモニタリングすることにおける特別な問題であり、ここに、トリグリセリドレベルは劇的に変化し得るが、LDL濃度における(典型的には、数パーセントのオーダーの)比較的小さな減少を正確にモニターすることが必要である。

【 0 0 0 6 】

前記の通常のアッセイ手法のさらなる欠点は、総CHおよびTGアッセイが全血漿試料に行う簡単な手法を含むが、HDL濃度の測定は、予備的分離プロセスを必要とし、ここに、LDLおよびVLDL成分は(LDL + VLDLを凝固させ、それらを遠心によって除去することによって)除去される。

【 0 0 0 7 】

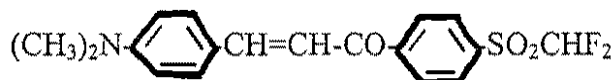
前記の方法のさらにさらなる欠点は、それがVLDL濃度の測定を提供せず、従って、例えば、酵素学的に推定された血漿中トリグリセリドおよび遊離グリセロール含量に基づきVLDL濃度を計算することによりいくらかの異なる方法またはプロセスから決定しなければならないことである。

【 0 0 0 8 】

主としてLDL + VLDLの合計である血漿の総リポタンパク質濃度をアッセイするための別法の方法は、2つのロシア特許第SU1457386号および第SU1476384号に開示されている。これらは、蛍光プローブとして、特定の有機発光団、4 - ジメチルアミノ - 4' - ジフルオロメチル - スルホニル - ベンジリデン - アセトフェノン(DMSBA)の使用に関する。K - 37と識別される該プローブの式は、後記に与えられる：

【 0 0 0 9 】

【化1】



【 0 0 1 0 】

該プローブK - 37は、水中にて発光しないが、血漿のごとき蛋白質水溶液中では高度に発光する。特に、蛍光強度は、血漿のリポタンパク質含量に高度に依存し、かくして、K - 37をプローブとして用いて、リポタンパク質濃度と、存在できる他の蛋白質の濃度を区別できる。

【 0 0 1 1 】

ロシア特許第SU1457386号は、K - 37を合成する方法を記載し、ロシア特許

10

20

30

40

50

第SU1476384号は、(標準試料の測定された蛍光および既知濃度に参照して)血漿試料およびK-37の混合物の定常状態蛍光の測定値から合わせた総CHおよびTG含量を計算する方法を記載している。アッセイされるべき血液試料は、緩衝液(pH7.4、10mNトリスHClおよび2mMEDTAを含有)を用いて希釈し、次いで、遠心して、赤血球および他の形成された成分を除去する。次いで、少量(10μl)のK-37の1mN標準溶液を1mlの上澄み溶液に添加し、得られた蛍光強度を、各々、440nmおよび550nmの励起波長および観察波長にて、蛍光分光光度計を用いて測定する。式は、アッセイされるべき試料の測定された蛍光、および既知希釈の既知のCHおよびTG濃度で、血漿の標準試料中のK-37の測定された蛍光からCHおよびTGの全濃度を計算するために開示されている。50倍ないし500倍希釈にてアッセイされるべき多数の異なる希釈の試料についてのプロセスの繰返しについての結果は、CHおよびTGの総濃度の測定が、血液希釈に大きく独立することを確立する。

10

【0012】

かくして、蛍光プローブとしてのK-37の使用は、非常に少ない血漿試料だけが必要とされるので、非常に敏感なアッセイ手法を提供し、それは、タンパク質成分の分離を必要とせずに行うために比較的簡単である。次いで、このように測定されたCHおよびTGの濃度は、計算された結果を正常値と比較することによって高脂血症の直接的な指標として用いることができる。

【0013】

前記方法の1つの欠点は、それが異なる分類のリポタンパク質間を区別せず、かくして、例えば、それを用いてLDL濃度における小さな変化をモニターできないことである。

20

【0014】

前記の欠点を除去または緩和することが本発明の目的である。

【0015】

本発明により、少なくとも2つの異なるクラスのリポタンパク質の混合物を含有する試料中の特定のクラスのリポタンパク質の濃度または相対的濃度を決定するためのアッセイ方法であって、

i) 各々のクラスのリポタンパク質に結合し、そのように結合する場合、適当な励起下にて蛍光するプローブ物質を該試料に添加し、

ii) 試料に対して時間分解蛍光測定を行ない；次いで、

iii) 該時間分解蛍光測定から得られた蛍光減衰データの分析から該決定を行う工程を含むことを特徴とする該方法が提供される。

30

【0016】

本発明は、リポタンパク質クラスの範囲の各々のものに結合する単一プローブが蛍光減衰寿命に参照して、該試料溶液中に存在するある特定のクラスのリポタンパク質の濃度(または相対的濃度)に対して情報を与えることができるという認識に基づいている。

【0017】

好ましくは、各々のクラスのリポタンパク質につき時間の関数として異なる特徴的蛍光強度の減衰を有するように該プローブ物質を選択する。

【0018】

本発明は、例えば、典型的には、電子時間窓を開けさせて、サブナノ秒およびナノ秒時間スケールでの時間における2点間の蛍光寿命事象を受容する時間ゲート(time-gated)測定系から区別されるごとき真の蛍光寿命測定を含む。時間ゲート測定方法それ自体は、寿命を直接的には測定しない。本発明に用いることができる公知の蛍光寿命測定方法の例は、パルス一致(pulse coincidence)、位相推移(phase shift)または位相変調の方法(後者の2つは、いずれも単一または複数の周波励起による)である。

40

【0019】

時間分解蛍光測定から得られたデータの分析は、多数の方法にて行うことができた。好ましい方法は、減衰時間を表すパラメーターを同定することであり、それは、うまく、該時間分解蛍光測定データに関して行われた多重指数関数分析(multi-exponential analysis

50

)の結果として誘導された指数時間定数であり得る。

【0022】

本発明は、血清または血漿のごとき蛋白質混合物中に存在する特定のクラスのリポタンパク質の濃度を決定するのに特に適当である。この場合には、プローブ物質は、好ましくは、前記のK-37である。

【0023】

本発明の操作の例は、今や、添付図面を参照して記載され、ここに：
図1は、後記の実施例2に関して引用されたプロットであり；および
図2および3は、後記の実施例3に関して引用されたプロットである。

【0024】

前記のごとく、本発明は、リポタンパク質の脂質に結合し、適当な放射波長にて励起される場合に蛍光する蛍光プローブ(K-37)を用いる時間分解蛍光測定に基づいている。時間分解蛍光測定の基本原理はよく知られており、特定の波長にて(または特定の範囲の波長にわたって)周期的な短いパルスの放射で試料を発光させ、次いで、各パルスに続く時間にわたって蛍光強度における減衰を測定することを含む。後記の実験において、シンクロトロン源を用いて、試料を励起し、次いで、単一光子計数法を用いて、時間減衰データを誘導した。Munro I. H., (1980)、「蛍光寿命測定法用および時間分解分光法用の変調された源としてのシンクロトロン放射」；Synchrotron Radiation Research 編, Winick H, Doniachs, Plenum Press New Yorkの第8章；Munro I. H., Schwenter N (1983)「シンクロトロン放射を用いる時間分解分光法に関して」Nuclear Instruments and Methods, 208, 819；およびO'Connor, D. V. Philips, D(1984) Time-Correlated Single-Photon-Counting, Academic Press, London。しかしながら、蛍光寿命の測定に適当ないずれの手法も用いることができると理解されるであろう。

【0025】

単一成分溶液中のリポタンパク質の区別およびリポタンパク質タイプの同定は、12TH NATIONAL SYNCHROTRON RADIATION CONFERENCE, NOVOSIBIRSK, RUSSIA, 14-18 JULY 1988, VOL. 448, no. 1-2, - July 1998 (1998-07) pages 471-477, XP004206579 Nuclear Instruments & Methods in Physics Research, Section A (Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment), 21 June 2000, Elsevier, Netherlands ISSN:0168-9002に開示されている。本発明の理解を助けるために、この文書の教示の適応例を今や記載するであろう。

【0026】

ヒト血清リポ蛋白質のVLDLおよびLDLはよく確立された慣用的な方法を用いて、超遠心分離のプロセスによって供与体血清から得た。次いで、各試料の各々の水溶液を調製し、各リポタンパク質は、pH7.3の0.14M NaCl、0.01Mトリス-HCl中の1g/Lの濃度を有する。次いで、プローブK-37を各試料溶液に攪拌下にて、ゆっくり添加した。

【0027】

次いで、各試料を440nmの励起波長にて、Daresbury Laboratory (Daresbury, Warrington, Cheshire, England)のシンクロトロン源を用いて、本発明に従って時間分解蛍光測定に付した。次いで、単光子計数法を用いて、550nmの検出波長に対してエネルギーにおいて等価な光子の時間分解減衰データを集めた。次いで、該結果の多重指数分析を非線形最小二乗法を用いて行ない、時間定数を減少させる一連の指数関数、すなわち：

【0028】

【数1】

$$F(t)=A_1 \exp(-t/\tau_1) + A_2 \exp(-t/\tau_2) + \dots$$

【0029】

[式中、 A_1 、 A_2 ・・・ A_n は振幅であって、 τ_1 、 τ_2 ・・・ τ_n は例示的減衰時間定数である]として強度減衰の時間依存性を表した。

10

20

30

40

50

【0030】

前記の数学的分析は、VLDL溶液につき $\tau_1 = 3.1$ ナノ秒およびLDL溶液につき $\tau_1 = 4.1$ ナノ秒を明らかとする。これらの数値計算における誤差は、0.2ナノ秒のオーダーにすぎないが、2つの数値間の差は明確に大きい。従って、LDLまたはVLDLのいずれかを含有するいずれの特定の単一成分溶液についての τ_1 の測定値も、リポタンパク質が存在することを明らかとするであろう。換言すれば、K-37プローブを用いる本発明による時間分解蛍光測定法の実行は、VLDLおよびLDLを区別し、 τ_1 の測定値は、各々の溶液中のVLDLまたはLDLの同定用のパラメーターとして推定できる。

【0031】

本実施例は、リポタンパク質の時間分解蛍光減衰がリポタンパク質の密度に高度に依存することを示す。LDLおよびVLDL溶液だけを用いたが、本実施例は、HDLのごとき他のリポタンパク質のクラスで繰返して、それらの特定の特徴的減衰時間定数を確立できる。

10

【0032】

本発明の実施例1：リポタンパク質混合物（血清）中のVLDL画分の決定。

異なるリポタンパク質がK-37を用いて測定されるごとき異なる蛍光減衰時間定数を有するならば、本実施例は、リポタンパク質混合物の時間分解蛍光減衰の測定を用いて、その混合物中に存在する異なるリポタンパク質の相対的濃度に関する直接的な情報を与える方法を示す。

【0033】

10個の血清試料をコレステロール（CH）およびトリグリセリド（TG）含量における広範囲の変動を有するように選択された異なる供与体から得て、次いで、脂質濃度の決定を臨床自動分析器における日常的な酵素分析を用いて各試料の一部分に行った。かかる手法は慣用的である。これは、各試料の3つの数値、すなわち、総CH濃度、総TG濃度、HDLコレステロール（CH-HDL）濃度を与えた。生化学的に測定された数値を後記の表1に与える。

20

【0034】

【表1】

表1

血清 番号	総 CH mg/dL	総 TG mg/dL	CH-HDL mg/dL
1	197	513	27
2	410	239	63
3	271	566	41
4	201	416	27
5	499	124	49
6	252	142	51
7	178	71	64
8	244	150	31
9	201	867	22
10	623	266	45

30

40

【0035】

該CHおよびTGのレベルは、各々、623mg/dLおよび867mg/dLの非常に高値まで全試料にわたって非常に広範囲に変動することが、表1から分かるであろう。さらに、CH：TG比は、0.23 - 対 - 4.0、すなわち、17倍変動する。これらの変動の範囲には、典型的なヨーロッパ人集団において見出されると期待できる数値の98%を超えて含まれる。

【0036】

50

次いで、時間分解減衰測定を、実施例 1 に関連して前記のごとく、該試料を調製して、蛍光測定を行い、各試料に行った。減衰時間 τ_1 の測定値を以下の表 2 に与える。

【 0 0 3 7 】

【表 2】

表 2

血清	減衰時間	
番号	τ_1 ナノ秒	
1	3,17	10
2	3,71	
3	3,25	
4	3,15	
5	3,8	
6	3,66	
7	3,67	
8	3,65	
9	2,98	
10	3,85	20

【 0 0 3 8 】、

ヒト血清中トリグリセリドが主として V L D L から生じ、総 C H が全てのリポタンパク質から生じ、V L D L コレステロール濃度が V L D L トリグリセリド濃度の約 0.2 であることはよく知られているので、V L D L : 総リポタンパク質濃度の比は以下の式によって表すことができる：

$$(C H - V L D L + 総 T G) / (総 C H + 総 T G) = 1.2 (総 T G) / (総 C H + 総 T G)$$

【 0 0 3 9 】

生化学的に決定されたデータへの参照により測定された減衰時間の分析は、混合物の τ_1 がその混合物内に存在するリポタンパク質の相対的濃度に密接に関連することを確立する。該試料の総リポタンパク質濃度の V L D L 画分と、測定された時間定数 τ_1 との間の密接な相関性は、以下の蛍光パラメーター F 1 :

$$F 1 = 2.0 - (6.2 / \tau_1)$$

を用いて示すことができる。

(表 2 に与えられた測定値 τ_1 から計算された) 蛍光パラメーター F 1 に対する (前記のごときおよび表 1 の生化学的に誘導されたデータを用いて計算された) V L D L 画分のプロットを図 1 として示す。これは、その 2 つの間に非常に強固な線形相関が存在することを示す。線形相関係数は、 $r = -0.98$ である (すなわち、1 に非常に近い)。

【 0 0 4 0 】

かくして、前記の確立された τ_1 および V L D L 画分間の相関性を知れば、いずれの血清試料の総コレステロール含量の V L D L 画分も、単一測定、すなわち、時間定数 τ_1 に基づいて本発明を用いて誘導できる。血清コレステロール成分の他の測定および先の分離は必要とされない。

【 0 0 4 1 】

前記の実施例が、 τ_1 および V L D L 画分間の関係を確立するが、同様の関係は、V D L および H D L を含めた他のリポタンパク質の τ_1 および画分濃度の間で確立できる。

【 0 0 4 2 】

本発明の実施例 2 : 血清中の L D L 濃度の決定 :

総リポタンパク質濃度に対するいずれの特定のクラスのリポタンパク質の画分濃度も、(前記の実施例 2 によって確立されたごとき) τ_1 から見出すことができるので、絶対濃度は、総 C H + T G 濃度の別々の測定から計算できることに続く。

【0043】

本明細書の導入部分に言及されるごとく、血清中のLDL濃度を正確に測定できることは非常に重要である。本実施例は、本発明を用いて、LDL濃度の測定を非常に単純化できる方法を説明する。

【0044】

表1の生化学的データおよび表2の関連した時間減衰測定を用いて、図2は、後記の蛍光パラメーターF2:

$$F2 = (CH + TG) \times [1.8 - (5.6 / \gamma_1)]$$

に対するLDLコレステロール(CH-LDL)のプロットである。

【0045】

図2は、蛍光パラメーターF2(かくして、 γ_1)およびLDL濃度との間に、用いられた試料によって示された非常に広範囲の濃度にわたり非常に密接な相関性が存在することを示す。線形相関係数は、 $r = 0.96$ である。かくして、本発明は、血清中のLDL濃度を決定する方法を提供し、わずか2つの測定値、すなわち、 γ_1 、およびよく知られ相対的に単純な臨床的手法を用いて容易に得ることができる総CH+TGを必要とする。従って、本発明によるLDL決定は、先行技術のものより、行うのに非常に単純でかつ直接的である。

【0046】

パラメーターF2およびVDL濃度間の相関性は、パラメーターF2の計算における生化学的に誘導されたデータ、すなわち、CH+TGの使用に起因し得ないことに注目すべきであろう。数値CH+TGは、事実、他方に対して一方をプロットする図3に示されるごとくCH-LDL濃度と何ら相関性を有しない。図3の場合において、線形相関係数は、ゼロに非常に接近している($r = 0.06$)。

【0047】

本方法から得られた結果は、有意な確率的誤差(random error)を示さない。さらに、いずれの小さな誤差も特性において系統的であり、試料が取られた特定の患者等に依存し、従って、その小さな誤差は、その患者に対する全てのテストにおいて存在し、かくして、例えば、経時的なLDLレベルにおける小さな変化を正確にモニターする能力に対して効果を有さないであろうと推定できる。

【0048】

本明細書の導入部分に言及されたごとく、K-37の蛍光強度は、血清の希釈の程度に依存しないようであり、かくして、本発明は大きな感度を有し、患者等から採取されるべきほんの少量の試料を必要とする。加えて、得られた結果は一貫し、長期の治療サイクルにわたる変化を測定するのに特に重要である再現性がある。

【0049】

時間分解蛍光データの獲得は単一工程操作であり、血清中リポタンパク質の先の分離を必要としないことが認められるであろう。加えて、蛍光寿命結果は、プローブK-37の添加の1分間以内に得ることができる。

【0050】

本発明を行い、血清および血漿以外の蛋白質混合物のリポタンパク質含量を同定できることが認められるであろう。

【図面の簡単な説明】

【図1】 図1は、実施例2に関して引用されたプロットであり、蛍光パラメーターF1とVDL画分との非常に強固な線形相関を示す。

【図2】 図2は、実施例3に関して引用されたプロットであり、蛍光パラメーターF2とLDL濃度との相関性を示す。

【図3】 図3は、実施例3に関して引用されたプロットであり、CH+TG濃度とCH-LDL濃度とが相関性を有しないことを示す。

10

20

30

40

【 図 1 】

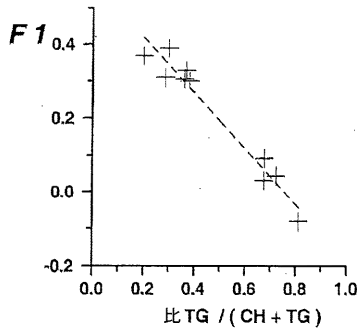


FIGURE 1

【 図 3 】

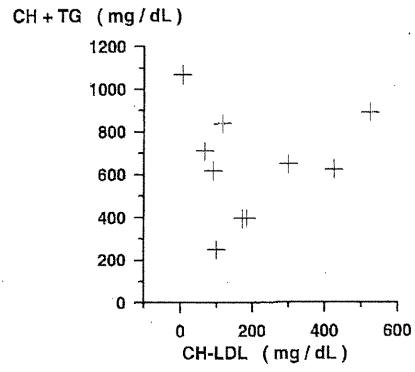


FIGURE 3

【 図 2 】

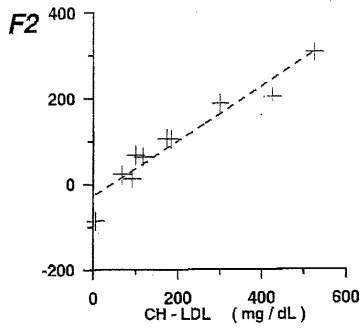


FIGURE 2

フロントページの続き

(51)Int.Cl.⁷

F I

G 0 1 N 33/533

(74)代理人 100106231

弁理士 矢野 正樹

(72)発明者 ゲナディ・エフゲニーエビッチ・ドブレツォフ

ロシア119828モスクワ、リサーチ・インスティテュート・フォー・フィジカル・ケミカル・メディシン

(72)発明者 タチアナ・イワノープナ・シレジシュチコワ

ロシア、モスクワ、レベデフ・フィジカル・インスティテュート

(72)発明者 ニコライ・コンスタンティノビッチ・クレク

ロシア119828モスクワ、リサーチ・インスティテュート・フォー・フィジカル・ケミカル・メディシン

(72)発明者 デイビッド・クラーク

イギリス、ダブリューエイ4・4エイディ、ウォーリントン、デアーズベリー・ラボラトリー

(72)発明者 ギャレス・ジョーンズ

イギリス、ダブリューエイ4・4エイディ、ウォーリントン、デアーズベリー・ラボラトリー

(72)発明者 ミハイル・ニコラエビッチ・ヤキメンコ

ロシア、モスクワ、レベデフ・フィジカル・インスティテュート

(72)発明者 ボリス・モルドゥホビッチ・クラソピツキー

ウクライナ310001ハリコフ、インスティテュート・オブ・シングルクリスタルズ

審査官 宮澤 浩

(56)参考文献 特開平10-332594(JP,A)

特表平06-504374(JP,A)

Leann Tilley, Rotational Diffusion of Human Lipoproteins and Their Receptors as Determined by Time-resolved Ph, The Journal of Biological Chemistry, 1998年11月25日, vol.263, no.33, p.17541-17547

G.V.Demyanov, Characteristics of molecular fluorescence of a lipid probe in human blood lipoproteins exposed t, Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A, 1995年5月1日, vol.359, p.342-344

(58)調査した分野(Int.Cl.⁷, DB名)

G01N 33/92

G01N 21/64

G01N 21/76

G01N 21/78

G01N 33/533

专利名称(译)	测定脂蛋白的方法		
公开(公告)号	JP3647810B2	公开(公告)日	2005-05-18
申请号	JP2001554066	申请日	2001-01-17
[标]申请(专利权)人(译)	COUNCIL FOR THE RES议会的CENT LAB		
申请(专利权)人(译)	委员会的研究委员会中心实验室		
当前申请(专利权)人(译)	委员会的研究委员会中心实验室		
[标]发明人	ゲナディエフゲニーエビッチドブレツォフ タチアナ・イワノブナ・シレジシュチコワ ニコライ・コンスタンティノビッチ・クレク デイビッド・クラーク ギャレス・ジョーンズ ミハイル・ニコラエビッチ・ヤキメンコ ボリス・モルドゥホビッチ・クラソビツキー		
发明人	ゲナディ・エフゲニーエビッチ・ドブレツォフ タチアナ・イワノブナ・シレジシュチコワ ニコライ・コンスタンティノビッチ・クレク デイビッド・クラーク ギャレス・ジョーンズ ミハイル・ニコラエビッチ・ヤキメンコ ボリス・モルドゥホビッチ・クラソビツキー		
IPC分类号	G01N21/64 G01N21/76 G01N21/78 G01N33/533 G01N33/557 G01N33/92		
CPC分类号	G01N33/533 G01N33/557 G01N33/92 G01N2800/044 Y10S435/973 Y10S436/80		
FI分类号	G01N33/92.Z G01N21/64.B G01N21/64.F G01N21/76 G01N21/78.C G01N33/533		
代理人(译)	矢野正树		
审查员(译)	宫泽浩		
优先权	2000001089 2000-01-18 GB		
其他公开文献	JP2003520963A		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

一种测定以确定许多不同靶分子类型中特定一种的样品溶液中的特性和/或浓度或相对浓度的方法，包括以下步骤：i) 向样品中加入与之结合的探针物质。或者每种目标分子类型，并且当它们在适当的激发下发出荧光时；ii) 对样品进行时间分辨荧光测量；iii) 通过分析从所述时间分辨荧光测量获得的时间衰减数据进行所述确定。

該プローブ物質が、化学式 K-37 :

【化1】

